Omaggio dell' Autore

LABORATORIO DI PATOLOGIA GENERALE ED ISTOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Diretto dal Prof. C. GOLGI)

DOTT. EMILIO VERATTI

SULLA FINE STRUTTURA DELLE CELLULE DI ALCUNI TUMORI

Dal Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia
Comunic. fatta nella seduta del 15 Gennaio 1909

PAVIA
TIPOGRAFIA E LEG. COOPERATIVA
1909

LABORATORIO DI PATOLOGIA GENERALE ED ISTOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Diretto dal Prof. C. GOLGI)

DOTT. EMILIO VERATTI

SULLA FINE STRUTTURA DELLE CELLULE DI ALCUNI TUMORI

Dal Bollettino della Società Medico-Chirurgica di Pavia
Comunic. fatta nella seduta del 15 Gennaio 1909

PAVIA
TIPOGRAFIA E LEG. COOPERATIVA
1909

LABORATORIO DI PATOLOGIA GENERALE ED ISTOLOGIA DELLA R. UNIVERSITÀ DI PAVIA
(Diretto dal Prof. C. GOLGI)

DOTT. EMILIO VERATTI

SULLA FINE STRUTTURA DELLE CELLULE DI ALCUNI TUMORI.

Nello scorso anno io mi proposi di studiare l'apparato reticolare interno di Golgi nelle cellule neoplastiche, applicando per la dimostrazione di questa particolarità di struttura gli espedienti recentemente proposti dal Golgi stesso (1), che sono, come è noto, modificazioni del metodo di Ramon y Cajal all' argento ridotto.

Esaminai, da questo speciale punto di vista, diverse forme di tumori umani e precisamente: due casi di adenocarcinoma del retto, un adenocarcinoma dello stomaco, due cancri della mammella, tre cancri del labbro, due cancri della vescica, due sarcomi a cellule fusate ed un sarcoma a cellule polimorfe.

I risultati in questo campo furono assai scarsi; nei tumori di origine epidermica non riuscii a mettere in evidenza una struttura sicuramente riferibile all'apparato reticolare interno, mentre spesso negli elementi della zona di infiltrazione limitante i tumori e nelle cellule fisse del derma gli apparati endocellulari apparivano finemente e completamente impregnati. Ciò non deve però far meraviglia, quando si ricordi che l' apparato reticolare, fino ad ora, malgrado ripetuti tentativi, non ha potuto essere dimostrato neppure negli elementi dell' epidermide normale.

Risultati costantemente negativi ottenni nei tumori della mammella, sebbene sia proprio in questi neoplasmi che Moriani (2, 3), fin dal 1901, applicando la reazione nera colla modalità da me suggerita, ha messo in evidenza dei reticoli endocellulari. Nei tre casi di tumori della mucosa del tubo digerente, due adenocarcinomi del retto e un adenocarcinoma dello stomaco, la reazione riuscì in modo molto esteso, in quasi tutte le cellule, ma senza rivelare alcunchè di particolarmente interessante: nelle cellule, che poco si discostavano dal tipo normale, anche l'apparato reticolare si presentava per forma, dimensione e posizione pressochè come negli elementi normali, nelle cellule fortemente atipiche, invece, era costituito da filamenti grossolani, spesso interrotti, irregolari, senza che fosse possibile decidere se questo insolito aspetto dovesse riferirsi a vera alterazione dell'apparato o ad imperfetta riuscita della colorazione.

Molto simili furono i reperti ottenuti in due tumori vescicali: anche quì vidi ripetersi, quasi corrispondesse ad una legge, il fatto che, quanto più le cellule si allontanano dal tipo normale, tanto più si accentuano nell'apparato reticolare delle modificazioni, per le quali esso si presta meno bene ad essere elettivamente impregnato, oppure realmente muta di forma tendendo a ridursi ad un ammasso di fili grossolani e frammentati.

Nei sarcomi, riguardo all'apparato reticolare, ottenni dei risultati incompleti, sui quali per ora non è il caso di intrattenersi; in uno però mi riuscì invece di mettere in evidenza alcune particolarità di struttura non prive di interesse e delle quali dirò appresso poche parole.

Oltre ai tumori umani fin quì accennati, estesi le mie ricerche anche a due tumori riproducibili del topo, due forme molto simili fra loro di adenocarcinoma, uno prove-

niente dall' Istituto del prof. Ehrlich e l' altro favoritomi dal prof. Borrel di Parigi. Si tratta di due tumori che probabilmente hanno avuto origine dalla mammella, a struttura caratteristica di adenocarcinomi, che da molto tempo vengono trasmessi per innesto da topo a topo ed hanno acquistato una notevole virulenza, giacchè l' uno attechisce circa nel 60 % e l'altro circa nel 90 % dei casi.

Anche negli elementi di questi tumori, non senza difficoltà, pervenni a mettere in evidenza un apparato reticolare, di solito assai piccolo, poco complicato, costituito da pochi filamenti irregolari, così che l' insieme non ha quell'eleganza, che siamo soliti osservare negli apparati reticolari delle cellule normali. Nei punti, dove il tumore ha carattere di adenoma e le cellule, di forma più o meno tipicamente cilindrica, si dispongono con una certa regolarità in formazioni tubulari, gli apparati reticolari occupano, con legge costante, la porzione della cellula situata fra il nucleo e l' estremità rivolta verso il lume del tubolo; in questi punti gli apparati appaiono relativamente più complessi, delicati ed eleganti (fig. 1, 2, 3).

Nelle zone, invece, dove il tumore ha più evidente carattere di carcinoma e gli elementi, divenuti gravemente atipici per forma e sottrattisi ad ogni legge di aggruppamento, si accumulano in ammassi irregolari, anche gli apparati reticolari, non più rispondenti ad alcuna regola per quanto riguarda la loro posizione nel corpo cellulare, appaiono spesso ridotti ad un grumo quasi informe o ad un gruppo di filamenti spezzettati, in parte fusi tra loro, in parte ridotti in granuli. Il reticolo è di solito adagiato sopra un polo del nucleo, spesso, quando è di dimensioni un po' notevoli, pare vi si modelli, ricoprendolo a guisa di cupola; occupa nel suo insieme, come ho detto, uno spazio limitato e non raggiunge mai, come è regola co-

stante per queste formazioni in tutti gli elementi, i limiti esterni del protoplasma cellulare.

Erano a questo punto le mie ricerche quando, avendo variato qualche modalità nell'applicazione del metodo di impregnazione senza però modificarlo sostanzialmente, vidi apparire, sempre negli stessi tumori dei topi, una singolare particolarità di struttura del citoplasma, che non mi risulta sia stata fino ad ora osservata nè in questi, nè in altri neoplasmi.

Si tratta di filamenti assai sottili, tortuosi, che si colorano elettivamente, che invadono tutto il protoplasma avvolgendo il nucleo e spingendosi fin quasi ai limiti esterni del corpo cellulare. I filamenti hanno spessore piuttosto uniforme, però non è raro osservare degli strozzamenti e delle piccole varicosità, spesso è un ingrossamento a guisa di capocchia che costituisce l'estremità dei fili. In qualche caso, ma raramente, ho potuto osservare con sicurezza delle biforcazioni, di solito i filamenti decorrono indivisi ed indipendenti gli uni dagli altri, così che l'insieme non dà l'impressione di una formazione reticolare, ma piuttosto di un gomitolo o di un viluppo, dal quale si staccano in varie direzioni dei fili isolati (Fig. 4, 5, 6).

Risulta con tutta evidenza che i filamenti hanno sede dentro il protoplasma; essi non assumono col nucleo, per quanto mi fu dato di osservare fino ad ora, che dei rapporti di contiguità, decorrendo talvolta ad immediato con-contatto colla membrana nucleare.

La descritta struttura a filamenti lunghi e regolari si osserva nelle porzioni periferiche dei tumori, di più recente formazione, e dove ancora non è iniziato alcun processo regressivo; mano a mano che ci avviciniamo alle parti interne, dove non mancano mai vaste zone in istato di necrobiosi, rileviamo che i filamenti hanno tendenza a

spezzettarsi, riducendosi a serie di bastoncini o di granulazioni allungate, fino a che, negli elementi che presentano note evidenti di degenerazione, la colorazione elettiva non mette in evidenza che delle granulazioni diverse di forma e di grandezza, irregolarmente sparse in tutto il protoplasma.

Quando si ottiene la impregnazione elettiva di questi filamenti endocellulari, manca costantemente la reazione sull'apparato reticolare e reciprocamente; però nello stesso tumore, variando qualche modalità nell' applicazione del metodo, ho potuto ottenere separatamente la dimostrazione delle due particolarità di struttura. Io credo che questo fatto, e più il confronto fra le figure dell' apparato reticolare e quelle, nelle quali ho cercato di riprodurre, colla maggior fedeltà possibile, l'aspetto dei descritti filamenti endocellulari, varranno a creare la convinzione, che in me si è andata formando coll'esame di molti preparati, che le due formazioni sono tra loro indipendenti.

Negli elementi in cariocinesi, che sono numerosi nei tumori oggetto delle mie osservazioni, non mi riuscì mai di mettere in evidenza degli apparati reticolari sicuramente riconoscibili, i filamenti invece si vedono sparsi nel protoplasma anche durante le fasi della divisione indiretta e si trasmettono inalterati dalla cellula madre alle cellule figlie (fig. 7).

Questi reperti, come ho accennato da principio, furono da me ottenuti fin dallo scorso anno, ma io non seppi trovare allora una interpretazione e neppure rilevare delle somiglianze, che permettessero almeno di ravvicinare questa struttura a qualche cosa di già conosciuto in altre categorie di elementi; perciò credetti opportuno mantenermi in assoluto riserbo proponendomi di allargare ed approfondire le ricerche.

Intanto in questi ultimi mesi sono stati resi noti due fatti che, a mio avviso, valgono a gettare una nuova luce sui risultati da me ottenuti, così che, guardati da un nuovo punto di vista, essi acquistano un interesse maggiore di quello che prima si poteva supporre.

Nell'ottobre dello scorso anno Meves, facendo seguito ad una breve nota preventiva apparsa quasi un anno prima, (4, 5) pubblicò un lavoro corredato da numerose figure, nel quale dimostra l'esistenza in quasi tutte le cellule di giovani embrioni di pollo di speciali formazioni, granuli, bastoncini e filamenti, differenziabili nel citoplasma coi metodi di fissazione e di colorazione, che servono anche per dimostrare i mitocondri, che egli propone di denominare, con termine generico, Condrosomi *). Per quelle, di tali formazioni, che sono foggiate a bastoncini od a filamenti, Meves propone il nome di Condroconti, ammettendo che essi siano per intero formati dalla sostanza che costituisce i mitocondri di Benda, i Condroconti differirebbero quindi dai mitocondri solo per la forma e dai Condromiti per la costituzione omogenea, mentre questi sono descritti da Benda come serie di granuli inclusi in filamenti plasmatici.

D'altra parte nello scorso mese Perroncito (6) annunciava che, nel corso dei suoi studi sulla spermatogenesi, era riuscito a colorare, col metodo di Golgi per l'apparato reticolare, in modo perfettamente elettivo, dei granuli e dei filamenti endocellulari evidentemente corrispondenti a quelli descritti come mitocondri e condromiti. La evidente corrispondenza di aspetto fra le formazioni da me poste in evidenza nei tumori dei topi e i condrosomi di Meves nell'em-

*) Preferisco scrivere *condrosomi, condromiti, condroconti* invece di *condriosomi, condriomiti, condrioconti,* perchè tale forma mi pare meglio corrispondente alla parola greca χόνδρος = granulo, dalla quale tutti questi vocaboli sono derivati.

brione di pollo, corrispondenza, che non risultava chiaramente alla lettura della breve descrizione senza figure contenuta nella nota preventiva, e la prova, fornita da Perroncito, che il metodo da noi usato può dare, in condizioni opportune, una impregnazione elettiva della sostanza costituente i mitocondri, mi hanno persuaso che le formazioni da me dimostrate sono da ravvicinarsi ai condroconti di Meves ed in genere agli apparati mitocondriali.

Come controprova tentai ripetutamente di mettere in evidenza i filamenti endocellulari dei tumori coi metodi usati da Benda e da Meves per la dimostrazione degli apparati mitocondriali, ma con esito fino ad ora poco soddisfacente. Pure con esito negativo applicai i metodi di colorazione usati per i mitocondri ed in particolare l'ematossilina ferrica ed il metodo di Benda al Cristall Violett su pezzi fissati colla soluzione idro-alcoolica, che si usa nel primo tempo del nuovo metodo di Golgi, oppure fissati in questa soluzione e poscia passati in un bagno di soluzione di nitrato d'argento. Non credo, però, che questi risultati negativi valgano ad infirmare il ravvicinamento da me proposto, che è fondato sopra una analogia morfologica di indiscutibile evidenza, mentre molto discutibile è la specificità attribuita ai metodi di colorazione dei mitocondri, metodi che sono ben lontani dall'avere il valore di reazioni microchimiche.

A tale ravvicinamento, d'altronde, io non attribuisco altro valore che quello di un raggruppamento di strutture morfologicamente simili con intendimento puramente sistematico, riconoscendo che, dal lato della interpretazione, esso presenta ben poco vantaggio, giacchè anche sul significato degli apparati mitocondriali e delle formazioni analoghe granulo-filamentose, descritte in varie categorie di elementi, regna ancora grande oscurità.

*
* *

Prima di chiudere questa breve nota voglio far cenno di un reperto, che ho ottenuto in un neoplasma dell'uomo; si trattava di un sarcoma della regione ascellare, a cellule prevalentemente fusate miste con elementi rotondi di dimensioni piuttosto grandi; lo sviluppo era stato assai rapido, gli elementi in cariocinesi, infatti, erano numerosissimi. Sempre applicando la nuova modalità tecnica proposta da Golgi, mi riuscì di mettere in evidenza in alcune cellule dei filamenti di spessore uniforme, a decorso regolare, come se fossero dotati di una certa rigidità, talvolta avvolti a gomitolo, raramente ramificati e mai disposti in modo da ricordare una formazione reticolare. I fili sono in numero vario e di diversa lunghezza; in alcune cellule non si scorge che un solo filamento (fig. 8), in altre un viluppo complicato di fili avvolge il nucleo ed occupa quasi tutto il citoplasma (fig. 9-10); tra questi due estremi vi sono poi tutti i gradi intermedii (fig. 11-12).

Non è raro il caso di riscontrare dei fili avvolti a costituire piccoli anelli indipendenti, oppure in continuità con altri filamenti. In una sezione del tumore non tutti gli elementi, anzi di solito solo pochi situati verso la periferia, mostrano questa particolarità di struttura; nelle stesse regioni, nelle quali vi sono cellule contenenti gli accennati filamenti, anche al di fuori delle cellule si trovano, più o meno abbondanti, dei frammenti di fili elettivamente impregnati, che con tutta sicurezza sono da interpretarsi come residui di fibrille connettive. Tali fibrille intercellulari, oltre chè rispondere al processo di impregnazione in modo identico alle fibrille endocellulari, presentano con queste spiccata somiglianza di dimensioni, di forma e di aspetto.

D' altra parte, se confrontiamo le immagini offerte dagli elementi di questo sarcoma con alcune delle figure dei condrosomi di Meves nelle cellule embrionali ed anche con qualcuna delle classiche figure di Condromiti (Condroconti di Meves) nelle cellule della serie spermatica degli invertebrati (7, 8, 9), non possiamo sottrarci all'impressione, che esista fra i due gruppi di formazioni una notevole analogia morfologica. Io credo affatto prematuro discutere se un ravvicinamento sarebbe in qnesto caso giustificato, solo mi sia concesso ricordare, da una parte, che i risultati degli studi più recenti e più accreditati tendono ad accertare che le fibrille connettive si formano primivamente dentro il corpo dei fibroblasti od alla superficie del loro citoplasma, come un prodotto di elaborazione del protoplasma stesso (10), dall' altra parte, che, secondo Meves, i condrosomi, da lui rivelati nelle cellule embrionali, rappresentano la matrice delle diverse strutture fibrillari, che si riscontrano nelle cellule a completo sviluppo, quindi, per i fibroblasti, rappresentano la forma primitiva della sostanza destinata a costituire le fibrille connettive.

Questi due dati, che potrebbero avere importanza in una futura discussione sull'interpretazione dei fatti ora osservati, io li metto avanti fin d'ora per accennare alla possibilità che le fibrille da me descritte negli elementi di un tumore maligno proveniente, con ogni probabilità, dal tessuto fibroso delle aponeurosi del cavo ascellare, siano l'espressione di una anormale funzione fibrogenica, conservatasi in alcuni elementi, e che si svolge in modo atipico, accennando ad un ritorno alle forme primitive embrionali.

Accenno a tale possibilità di interpretazione solo per dimostrare che la duplice analogia, sulla quale ho richiamata l' attenzione, colle fibrille connettive da una parte, coi condrosomi dall'altra, non implica una contraddizione;

ma riconosco che i dati sono per ora troppo scarsi e la questione troppo delicata ed oscura, perchè sia lecito arrischiare anche una semplice ipotesi.

Mi preme però di eliminare due obbiezioni, che potrebbero sorgere dall' esame di alcune delle figure : la prima che le fibrille non siano endocellulari, ma solo applicate alla superficie degli elementi, la seconda, che possa trattarsi di fatti di fagocitosi. Che le fibrille siano veramente incluse nel protoplasma io credo di poterlo affermare, dopo diligente esame dei preparati, con tutta sicurezza; esse appaiono talvolta avvoltolate attorno al nucleo a immediato contatto colla membrana nucleare mentre, grazie alla colorazione di contrasto sovrapposta alla impregnazione metallica, i margini del corpo cellulare risultano ben visibili ad una distanza relativamente notevole dai limiti estremi del gruppo dei filamenti (fig. 12). Il dubbio che trattisi di fenomeni di fagocitosi, il quale potrebbe trovare in apparenza qualche fondamento nelle osservazioni di Podwyssotzki su pretesi fatti di autofagismo nei sarcomi, credo sia da escludersi perchè, come dimostrano le figure 13, 14, 15, dei filamenti si trovano anche in cellule fusate, nelle quali per la loro forma e per i loro rapporti non è da supporsi la possibilità di movimenti ameboidi e quindi di una funzione fagocitaria.

Mantenendo la massima riserva sui reperti ottenuti nelle cellule sarcomatose, riguardo ai quali non intento andare più in là della semplice descrizione del fatto, devo limitare le mie conclusioni all' affermazione che *negli elementi di alcuni tumori (adenocarcinomi trasmissibili dei topi), accanto all'apparato reticolare interno di Golgi, e senza apparente rapporto con questo, esistono delle formazioni simili ai condrosomi di Meves e probabilmente di significato analogo.*

LAVORI CITATI

1. Golgi C. — Di un metodo per la facile e pronta dimostrazione dell' apparato reticolare interno delle cellule nervose. - Boll. Soc. Med.-Chir. di Pavia, 1908, N. 2.
2. Moriani G. — Di un apparato reticolare entro alcune cellule cancerigne. - Atti della Acc. dei Fisiocritici di Siena, 1901, Fasc. 6.
3. Id. — Ueber ein Binnennetz der Krebszellen. - Ziegler's Beiträge, Bd. 35, 1904, S. 627.
4. Meves F. — Ueber Mitochondrien bzw. Chondriokonten in den Zellen junger Embryonen. - Anat. Anz., Bd. 31, S. 399.
5. Id. — Die Chondriosomen als Träger erblicher Anlagen. - Cytologische Studien am Hühnerembryo. - Arch. f. mikr. Anat., Bd. 72, S. 816.
6. Perroncito A. — Condriosomi, cromidii e apparato reticolare interno nelle cellule spermatiche, (Nota preventiva). - Rend. R. Ist. Lomb., Serie II, Vol. XLI, 1908.
7. Meves F. — Ueber den von La Valette S.t George endeckten Nebenkern (Mitochondrienkörper) der Samenzellen. - Arch. f. mikr. Anat., Bd. 56.
8. Id. — Die Spermatocytenteilungen bei der Honigbiene nebst Bemerkungen über Chromatinreduktion. - Arch. f. mikr. Anat., Bd. 70, S. 414.
9. Meves und Duesberg. — Die Spermatocytenteilungen bei der Hornisse. - Arch. f. mikr. Anat., Bd. 71, S. 571.
10. Golowinski — Zur Kenntnis der Histogenese der Bindegewebsfibrillen. - Anat. Hefte, Abt. 1, Bd. 33.
11. Podwyssotzki — Ueber Autolyse und Autophagismus in Endotheliomen und Sarkomen als Grundlage zur Ausarbeitung einer Methode der Heilung inoperierbarer Geschwülste. - Ziegler's Beiträge, Bd. 33, 1905.

Spiegazione delle figure.

1\. 2. 3. - Elementi di un adeno-carcinoma trasmissibile del topo. - Apparato reticolare interno di Golgi.

4\. 5. 6. - Elementi dello stesso tumore. - Filamenti endocellulari.

7\. - Un elemento dello stesso tumore in cariocinesi. - Filamenti endocellulari.

7.-15. - Elementi di un sarcoma della regione ascellare dell' uomo. - Dimostrazione di particolari filamenti endocellulari.

Dr Veratti dis.

Lit. Tacchinardi e Ferrari - Pavia